

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA
Leptospira spp. EM FELÍDEOS NEOTROPICAIS
EM CATIVEIRO NO BRASIL**

Pós-graduando: Guilherme Guerra Neto

Orientador: Prof. Dr. Raul José Silva Girio

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP,
Campus de Jaboticabal para a obtenção do
título de Mestre em Medicina Veterinária na
área da Patologia Animal.**

**Jaboticabal-SP
Julho – 2006**

DEDICO:

Aos animais, principalmente aqueles que sofrem em decorrência da "irracionalidade" do homem... Por serem o principal fundamento de amor para mim nessa existência.

A Deus, a Jesus e ao meu anjo de guarda por me mostrarem sempre o caminho certo, dando-me forças para vencer todos os obstáculos que a vida na Terra nos impõe.

Aos meus pais Laeir e Sônia, por todo o amor, amizade e confiança que recebi desde que nossos espíritos na Terra se encontraram (e olha que já faz tempo!), ajudando-me a evoluir e praticar o bem e a caridade.

Aos meus irmãos, Lucas e Mateus pelo grande amor que sempre nos fez tão unidos e amigos.

A minha avó Aparecida, tia Cibeli, tia Samira e tia Sandra e tia Sílvia pelo amor incondicional que me dão.

Ao meu amigo Flávio pelo amor, amizade e por ter tido participação singular na descoberta da minha verdadeira identidade.

Ao Weber pelo amor que me faz ser cada dia mais realizado como ser humano e feliz ao seu lado!

AGRADECIMENTOS:

A FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa concedida para a realização do meu Mestrado e aprovação dos relatórios.

Ao Prof. Dr. Raul José da Silva Gírio, pela orientação e amizade durante meu Mestrado. Obrigado por ter acreditado no meu potencial e permitido que uma nova linha de pesquisa fosse incorporada ao Departamento.

Ao Instituto Biológico, principalmente a Dr. Margareth e meninas do laboratório de leptospirose, pelo carinho e ajuda.

A toda a equipe de profissionais e técnicos da Associação Mata Ciliar e Centro Brasileiro para a Conservação de Felídeos Neotropicais, principalmente a Cris e ao Jorge pelo fornecimento das alíquotas de soro sanguíneo dos felídeos estudados, amizade e confiança.

Ao técnico do Laboratório de leptospirose, Nivaldo Assis, pela paciência inesgotável e ajuda durante o tempo em que lá fiquei. Agradeço por tudo que me ensinou.

Aos meus professores Karin, Márcia e Maurício por me terem formado um veterinário que ama e estuda muito a fauna silvestre!

As minhas queridas professoras Adolorata, Ângela e Glorinha pela amizade, carinho e conselhos!

Ao professor Amaral e Adjair pela amizade e conselhos humanos e científicos! Muito obrigado!

As minhas amigas Amanda, Débora e Susan por terem me ensinado que na vida a gente tem que “se permitir”. Obrigado por terem me ajudado a conhecer mais do que há dentro de mim. Sentirei saudades dos nossos inesquecíveis momentos de loucura! Tenho a plena segurança que seremos amigos para sempre.

As minhas amigas Paula, Jujuba e Cris pelo amor e momentos de alegria e bagunças nos infinitos dias que vivemos juntos e com certeza ainda viveremos. Amo vocês!

Aos meus eternos amigos da Pós: Ângela, Flávia, Ana Lígia, Malu, Durva, Gláucia, Fabiano, Vanessa, Beth, Nara, Guido, Luciano, Marcio, Carol, Fernanda M.,

Violeta, e muitos outros pelas alegrias que fez nascer de nós uma amizade, que embora distante estará sempre no meu coração.

À Valéria pela linda amizade durante todos esse anos em Jaboticabal. Obrigado por me ensinar que o amor de um amigo verdadeiro é tão lindo quanto o pôr do sol num dia de verão.

A todos os meus outros amigos dos outros cursos, como Ana Terra, Xinela, Ogiva, Ju, etc...adoro vocês!

A todos os meus amigos de Olímpia, Araraquara e São Carlos que embora ausentes em Jaboticabal, sempre foram presentes no meu pensamento. Amo vocês!

A todas as repúblicas de amigos que fiz em Jaboticabal pela amizade e momentos de descontração e bagunças, que com certeza continuarão por muito tempo.

Aos meus filhos peludos, Minnie, Mindy, Grace, Will, Sharon, Tetê, Caterine, Catriel, Calli, Sabrina, Wish, Sarah, Jim, Sophie, Pandy, Pi e China por terem fielmente me amado. Obrigado por terem me ajudado a descobrir que não é de vocês que eu quero medicar e cuidar.

RESUMO

A leptospirose é uma doença bacteriana de caráter zoonótico e cosmopolita que afeta o homem, os animais domésticos e silvestres. Levantamentos sorológicos em várias partes do mundo têm demonstrado o envolvimento de diferentes espécies sinantrópicas e silvestres na epidemiologia da doença, como roedores, edentatas, carnívoros, marsupiais e artiodáctilos. São poucos os estudos sobre a leptospirose em populações de animais silvestres cativos, especialmente em animais da fauna sul americana, onde a literatura é ainda mais escassa. Considerando-se tal situação, o presente estudo teve como objetivos determinar a frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais e identificar os sorovares de maior predominância nas diferentes espécies estudadas. Foram colhidas amostras sanguíneas de 359 felídeos de cativeiro provenientes de 41 instituições localizadas em 41 cidades nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Dos 359 soros sanguíneos, 46 (12,81%) foram reagentes para o teste de soroaglutinação microscópica (SAM). As espécies de felídeos neotropicais que apresentaram amostras de soro reagentes e os sorovares encontrados foram: *Panthera onca* (Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Pomona, Andamana e Patoc); *Puma concolor* (Canicola, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae e Grippytyphosa); *Leopardus pardalis* (Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Pomona, Andamana e Patoc); *Leopardus tigrinus* (Icterohaemorrhagiae) e *Herpailurus yagouaroundi* (Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae). Os felídeos das espécies *Leopardus wiedii*, *Oncifelis colocolo* e *Oncifelis geoffroy* não foram reagentes na SAM. O sorovar Grippytyphosa foi o mais frequente (39,13%) e a maior frequência de amostras sorológicas reagentes foi para a espécie *Leopardus pardalis* (20,54%). As frequências de animais sororreagentes, com exceção das jaguatiricas, quando comparadas estatisticamente entre os Estados de São Paulo e Minas Gerais não apresentaram diferença significativa. Os exames das amostras de felídeos pertencentes às instituições no Estado do Rio de Janeiro não foram suficientes para verificar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. Se nos felídeos a frequência de anticorpos contra a leptospira foi considerável, mesmo sendo eles vistos por muitos autores como animais resistentes a esta bactéria, é de grande importância que haja um monitoramento sorológico para leptospirose de toda a população de animais silvestres em cativeiro no Brasil, assim como nas pessoas que trabalham e convivem com eles, pois só assim poder-se-á conhecer um pouco mais da dinâmica desta zoonose nestes ambientes.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Os incêndios e a degradação nas florestas tropicais remanescentes da América, em decorrência da expansão da agricultura e pecuária, exploração de madeira, mineração, utilização de plantas medicinais por indústrias farmacêuticas, construção de hidrelétricas, urbanização, entre outros, têm causado danos consideráveis a este ecossistema, habitat dos muitos animais brasileiros os quais hoje fazem parte do livro vermelho de animais ameaçados de extinção. Por este motivo, inúmeras entidades, criadouros, organizações e zoológicos, preocupados com a preservação e conservação destas espécies, adotaram para si, programas que visam diminuir o risco de extinção, garantindo a sobrevivência das espécies.

As doenças e seus agentes são parte dos ecossistemas e participam de um conjunto de inter-relações com os componentes bióticos e abióticos do meio, contribuindo com a dinâmica das populações envolvidas. Portanto, as doenças, assim como os predadores, disponibilidade de alimentos, abrigo, temperatura e outros mais, vão atuar sobre as populações mantendo um equilíbrio dinâmico e conseqüentemente a integridade do meio. Neste contexto, onde algumas espécies têm populações muito reduzidas, isoladas e na maioria das vezes em contato direto com os animais domésticos, as doenças contagiosas constituem uma ameaça real de extinção. A introdução de doenças exóticas a essas populações poderá acarretar efeitos devastadores.

Animais selvagens são hospedeiros de um grande número de agentes de doenças, incluindo vírus, bactérias, helmintos e outros. A natureza da relação parasita *versus* hospedeiro é bastante complexa e pode ser modulada por diversos fatores ligados ao ambiente, ao hospedeiro e ao agente.

Em condições de cativeiro, diversos elos do frágil equilíbrio entre hospedeiro e parasita podem ser rompidos. A subnutrição, decorrente do desconhecimento das necessidades básicas das diferentes espécies, a limitação espacial que pode predispor a uma re-infecção ou re-infestação, assim como o estresse crônico, fruto de ambientes inadequados, totalmente distintos dos habitats ocupados pelos

animais, levarão a alterações orgânicas e comportamentais que favorecem a instalação de doenças e o desenvolvimento de quadros clínicos mais severos.

Atualmente, os esforços são dirigidos para inserir ainda mais os zoológicos no contexto social. Especialistas de diversos países têm se reunido para deliberarem estratégias de conservação e monitoramento médico veterinário (THE WORLD ZOO ORGANIZATION e THE CAPTIVE BREEDING SPECIALIST GROUP, 1993). Em nosso país, segundo a legislação vigente (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 1989) um jardim zoológico (zôo) é considerado como “qualquer coleção de animais vivos, em cativeiro ou em semiliberdade, expostos à visitação pública”.

No que concerne à pesquisa científica, os zôos oferecem diversas oportunidades para o estudo de animais silvestres em situações controladas e proporcionam a aplicação de novas tecnologias no diagnóstico das enfermidades transmissíveis nesses animais (MUNSON & COCK, 1993). Da mesma forma, os zôos constituem importantes fontes de informação para estudos epidemiológicos (THRUSFIELD, 1995).

Apesar dos esforços dos profissionais para manter um rigoroso manejo sanitário, o ambiente de zoológico continua sendo propício à disseminação de uma gama de doenças, muitas delas zoonóticas (MONTALI & MIGAKI, 1980; SIEMERING, 1986; FOWLER, 1993).

A leptospirose acomete todos os animais domésticos, silvestres e o ser humano, manifestando ou não os sinais clínicos e sintomas decorrentes da infecção. Inúmeros animais domésticos, bem como a maioria das espécies silvestres com destaque para os carnívoros, roedores e marsupiais, pode tornar-se portadora e contribuir para a disseminação do microrganismo na natureza. Além da importância animal, a leptospirose assume papel relevante do ponto de vista de Saúde Pública, uma vez que o contato com animais infectados é uma importante via de transmissão para o ser humano (MICHNA, 1970; AMATREDJO et al. 1975; HIGGINS et al. 1980).

As leptospiros são espiroquetas pertencentes à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, gênero *Leptospira* (NOGUCHI, 1918). O gênero *Leptospira* era anteriormente dividido em duas espécies: *Leptospira interrogans*, apresentando uma variação antigênica caracterizada por 23 sorogrupos e 202 sorotipos (BARATON & POSTIC, 1989), que englobava um grande número de variedades antigênicas, e *Leptospira biflexa*, variedades de comportamento saprófita de vida livre presentes em água doce de superfície, distribuídas em 38 sorogrupos e 65 sorotipos (FAINE, 1994). Essa divisão baseava-se em critérios estritamente relacionados a reações sorológicas relativamente específicas, que forneciam os sorogrupos e os sorovares de leptospiros patogênicos e saprófitas. A identificação dos sorotipos só era possível pelo emprego da técnica de absorção cruzada de aglutininas, executada por laboratórios de referência (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1985). Em 1992, o Subcomitê de Taxonomia da *Leptospira* propôs uma nova divisão para esse gênero, o qual é formado atualmente por oito genomoespécies patogênicas: *L. borgpetersenii*, *L. interrogans sensu stricto*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. kirschneri*, *L. inadai* e *L. fainii*, distribuídas em 26 sorogrupos e 250 sorovares, e três genomoespécies saprófitas, ou de vida livre: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, com raros registros de infecções (KMETY & DIKKEN, 1993).

A leptospira tem sido detectada em praticamente todos os países que realizam investigações epidemiológicas (PANDEY, 1994), e está mundialmente distribuída. Sua incidência tem forte associação com períodos de alta pluviosidade (ACHA & SZYFRES, 1986; PLANK & DEAN, 2000) e, sob condições favoráveis e na presença de hospedeiros adequados, as leptospiros podem persistir por semanas ou meses (PLANK & DEAN, 2000) no ambiente, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (SULZER, 1980). Em regiões secas, infecções acidentais ocorrem próximas a águas represadas com alta concentração de animais. Em regiões temperadas as infecções são sazonais, ocorrendo com maior frequência nos meses quentes e chuvosos (SZYFRES, 1976).

A leptospirose é mais difundida nos países tropicais, sendo o agente infectante um dos muitos sorovares, carreados por uma grande variedade de hospedeiros (PANDEY, 1994).

CÔRTEZ (1993) relatou que a ocorrência da leptospirose é variável em diferentes áreas geográficas, no entanto, são freqüentes as situações de endemia, com variações sazonais revelando picos epidêmicos nos meses chuvosos, onde há associação entre as condições ambientais propícias - crescimento desordenado dos grandes centros urbanos, migrações e deficiências nas condições de saneamento básico - e a alta densidade de roedores infectados decorrente do acúmulo desordenado de lixo, que terão sua urina disseminada pelas enchentes, favorecida, entre outros fatores, pela obstrução dos cursos d'água e canais, e pela impermeabilização das vias públicas. Os casos de leptospirose estão usualmente associados à exposição à água contaminada com a urina ou tecidos provenientes de animais infectados (FAINE, 1994). ALVES et al. (1996) e ROMERO et al. (2003) destacaram a grande importância que a leptospirose assume em países subdesenvolvidos, onde são encontradas freqüentemente condições precárias de trabalho e moradia, maximizando a oportunidade de transmissão da leptospirose para os seres humanos.

O grande número de sorovares existentes dificulta os estudos, uma vez que podem ocorrer variações regionais, bem como variações nas espécies estudadas. Constata-se ainda, uma predileção dos diferentes sorovares por determinadas espécies, podendo haver um mesmo hospedeiro infectado por um ou mais sorovares (ACHA & SZYFRES, 1986, 2001).

Os diferentes sorovares de *L. interrogans* não apresentam especificidade de hospedeiro, porém o que se observa é a existência de uma preferência de certos sorovares por determinados vertebrados. Exemplos desta condição configuram-se nas associações estabelecidas entre o rato de esgoto e o sorovar Icterohaemorrhagiae, o cão doméstico e o sorovar Canicola, o suíno e o sorovar Pomona e o bovino e o sorovar Hardjo e ou Wolffi (QUINN et al. 1994; FAINE, 1994).

Os altos riscos de infecções são caracterizados pelo contato direto ou indireto com urina (PANDEY, 1994) e produtos provenientes de animais infectados (BLOOD & RADOSTITS, 1989). BLAHA (1995) cita a transmissão por meio da água parada, por urina contaminada, ou de um animal infectado a outro pelo coito. O solo úmido contaminado permite a sobrevivência da *Leptospira* com capacidade infectante por duas semanas ou mais, e as leptospiros sobrevivem na superfície das águas por muitos meses (PANDEY, 1994).

O período de sobrevivência das leptospiros patogênicas, na água, varia segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 e 7,4 (BROD, 2005).

A penetração da *Leptospira* spp. no hospedeiro ocorre por meio das mucosas ou de lesões de pele ou mesmo pele íntegra, seguindo-se da sua multiplicação no sangue e praticamente em todos os órgãos e tecidos. Nos animais que conseguem sobreviver à fase aguda da leptospirose, os microrganismos alcançam a luz dos túbulos contornados renais e são eliminados pela urina por períodos de tempo variados, caracterizando a modalidade de fonte de infecção denominada de portador convalescente (VASCONCELLOS, 1987). Outra fonte de infecção importante é o roedor, tanto silvestre quanto sinantrópico, que pode exercer o papel de reservatório de leptospiros e, além de manter o agente, o dissemina por meio da urina no ambiente (FAINE, 1982). As fontes de infecção são os reservatórios, os portadores, portadores convalescentes e os animais doentes. Os reservatórios, na maioria dos casos, são os roedores das espécies *Mus musculus*, *Rattus rattus* e, principalmente, o *Rattus norvegicus* (MASCARO & SANTOS, 1990; LANGONI, 1999). A infecção é comum em roedores que atuam como reservatórios, apresentando o agente sem manifestar sinais clínicos (ACHA & SZYFRES, 1986).

Em vários locais do mundo, investigações sobre a presença de leptospiros em animais silvestres têm sido demonstradas em roedores, edentatas, carnívoros e artiodáctilos os quais podem atuar como fonte de infecção (REILLY et al. 1968; MICHNA & CAMPBELL, 1970).

Poucos estudos evidenciam a presença da leptospirose acometendo populações cativas, relatando óbito em primatas (SHIVE et al. 1969; SÁ et al. 1999), guanaco (HODGIN et al. 1984) e ariranhas (FARIAS et al. 1999).

O melhor conhecimento da leptospirose na fauna silvestre é importante para o controle e profilaxia da enfermidade nas espécies domésticas e também no ser humano (SOSA et al. 1988).

Na fauna silvestre, os sinais relatados são semelhantes aos apresentados por animais domésticos, havendo descrição de baixo índice de fertilidade, nascimento de crias fracas, abortamentos e transtornos oculares (ALVARES et al. 1996).

Levantamentos sorológicos têm demonstrado o envolvimento de diferentes espécies sinantrópicas e silvestres das ordens Didelphimorfia e Rodentia, como potenciais disseminadores dos diferentes sorovares de *Leptospira* spp. (McCAUGHEY & FAIRLEI, 1971; SANTA ROSA et al. 1975; AL SAAD et al. 1976; CIRONE et al. 1978; CORDEIRO et al. 1981; EVERARD et al. 1983; SHIMIZU, 1984; RIM et al. 1993; HARTSKEERL & TERPSTRA, 1996).

Na ordem Rodentia, a ratazana ou rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) é apontado como importante reservatório do sorovar Icterohaemorrhagiae (SANTA ROSA et al. 1975), no rato d'água (*Nectomys squamipes*) tem sido demonstrado o sorovar Australis (CORDEIRO et al. 1981) e no preá (*Cavia aperea azarae*) o sorovar Icterohaemorrhagiae (PESTANA DE CASTRO et al. 1961; SILVA, 1976).

Em estudo recente realizado por STRAUBE et al. (2004), foi feito um levantamento da importância do *Rattus norvegicus* na cadeia epidemiológica da leptospirose em zôos da Alemanha; das 920 amostras de sangue de roedores sinantrópicos residentes nos zôos e imediações, 11,4% dos animais desta espécie mostraram-se positivos para análise de DNA da *Leptospira* spp. por PCR de tecido renal.

Entre os marsupiais da ordem Didelphimorfia, nos gambás (*Didelphis marsupialis*) foram descritos títulos para os sorovares Ballum, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Szwajizam e Grippytyphosa (HATHAWAY et al. 1981; SANTA ROSA et al. 1975; CALDAS et al. 1992). DUHAMEL et al. (1998) descreveu o

Didelphis virginianus como potencial reservatório para espiroquetas. Títulos para o sorovar Balcânica foram descritos em opossum (*Trichosurus vulpecula*) na Nova Zelândia (HATHAWAY et al. 1978; DAY et al. 1997, 1998).

Os mamíferos da Ordem Carnivora são espécies importantes na cadeia epidemiológica de determinadas enfermidades devido ao seu papel de predadores e sua importância no equilíbrio dos ecossistemas, onde são tidos como o topo de cadeia alimentar. São, assim, indicadores de saúde do meio ambiente e, por esse motivo, não pode ser desconsiderada a sua importância na cadeia epidemiológica da leptospirose.

Os raccoons norte-americanos (*Procyon lotor*), espécie representante da família Procyonidae, são considerados sinantrópicos na América do Norte e foram descritos como potenciais reservatórios de leptospiros. O sorovar Bratislava foi descrito nesta espécie por MIKAELLIAN et al. (1997) e os sorovares Grippytyphosa, Canicola e Icterohaemorrhagiae descritos por MITCHELL et al. (1999).

BISCHOF & ROGERS (2005) estudando a presença de vários agentes infecciosos em populações de coyotes (*Canis latrans*) e raccoons (*Procyon lotor*) em Nebraska, EUA, verificaram que nenhum dos coiotes apresentaram títulos para anticorpos contra *Leptospira* spp., mas detectaram em 11% dos 63 soros de raccoons anticorpos contra leptospiros.

Estudos realizados no exterior com carnívoros vivendo em zoológicos ou mesmo em condições selvagens relatam o contato com a bactéria, evidenciado pela presença de anticorpos aglutinantes. MARLER et al. (1979) encontraram 10% dos coiotes (*Canis latrans*) selvagens do centro-norte do Estado do Kansas, EUA, reagentes, sendo detectados anticorpos contra os sorovares Grippytyphosa, Pyrogenes, Djasiman, Butembo e Pomona. Nos coiotes do Parque Nacional de Yellowstone, GESE et al. (1997) constataram que a prevalência de anticorpos contra *L. interrogans* sorovar Pomona foi de 7% para os animais adultos e 9% para os filhotes. Já o sorovar Grippytyphosa foi detectado em 17% dos coiotes adultos. Em estudo realizado por HOLZMAN et al. (1992) no centro-sul do Estado da Geórgia, EUA, nenhum coioite foi reagente para os sorovares de *L. interrogans* testados.

KHAN et al. (1991) demonstraram que a ocorrência da leptospirose em lobos (*Canis lupus*) poderia existir, quando demonstraram títulos de anticorpos ≥ 50 contra um ou mais sorovares de *L. interrogans*, sendo os sorovares encontrados em ordem decrescente: Grippotyphosa, Bratislava, Autumnalis, Canicola, Pomona, Ballum, Pyrogenes, Hardjo e Copenhageni.

KINGSCOTE (1986) relata em um estudo realizado em Ontário, Canadá, com raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*) que anticorpos contra o sorovar Autumnalis ocorreram em 12% dos soros sanguíneos das raposas testados e que em 6% das mesmas o sorovar Pomona também estava presente, embora em menores títulos. Já HATHAWAY et al. (1983) relataram a ocorrência de anticorpos contra sorovares Muenchen e Bratislava do sorogrupo Australis em raposas da Grã-Bretanha e com esse estudo puderam concluir que a manutenção do sorovar Muenchen em espécies selvagens daquele local poderia ser uma condição ecológica única até aquele momento.

AMUNDSON & YUILL (1981), estudando a prevalência de vários agentes microbianos patogênicos em raposas vermelhas e raposas cinzas (*Urocyon cinereoargenteus*) de vida livre do Estado de Wisconsin, EUA, encontraram uma maior prevalência para o sorovar Grippotyphosa, o qual estava presente em 47% das raposas vermelhas e em 31% das raposas cinzas. Os autores demonstraram também que os títulos de anticorpos eram significativamente mais altos ($P < 0,05$) em raposas jovens do que nas adultas de ambas espécies.

CIRONE et al. (1978), procurando avaliar dois métodos de diagnóstico sorológico para leptospirose em animais selvagens, encontraram 89% de soropositividade nas 62 amostras de soro sanguíneo de carnívoros selvagens os quais estavam representados em sete espécies distintas. Neste estudo, a maioria dos sorovares encontrados foram: Pomona, Autumnalis, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae, Australis e Canicola.

Com o objetivo de identificar a ocorrência de sorovares de *Leptospira* no norte de Tyrol, SEBEK et al. (1976) examinaram sorologicamente 623 animais selvagens da região e obtiveram títulos ≥ 100 em 4,5% dos animais, dentre eles carnívoros como o furão bravo (*Putorius putorius*) e a raposa vermelha. Neste estudo, os

sorovares mais encontrados foram Icterohaemorrhagiae, Sorex-Jalna, Castellonis, Gryppotyphosa, Bratislava, Pomona, Sejroe e Saxkoebing. Com a pesquisa, estes autores concluíram que os sorovares Sorex-Jalna, Gryppotyphosa, Bratislava e Saxkoebing formavam focos naturais de leptospirose, enquanto os sorovares Icterohaemorrhagiae ou Copenhageni e Sejroe eram responsáveis pelos focos sinantrópicos da doença.

MODRIC & HUBER (1993) detectaram que dos 42 ursos marrons europeus (*Ursus arctos*) estudados na Croácia, 17 deles apresentaram anticorpos contra os sorovares Australis, Sejroe, Canicola e Icterohaemorrhagiae, enquanto que ZARNKE (1983) encontrou positividade em 5% das 122 amostras de soro sanguíneo de ursos grizzly (*Ursus arctos grizzly*) e 4% das 28 amostras de soro sanguíneo de ursos negros (*Ursus americanus*) em um estudo realizado no Alaska. ANDERSON et al. (1978) descreveram a ocorrência de leptospirose em dois tratadores de animais de zoológico e puderam concluir que a transmissão da doença para tais tratadores tinha ocorrido pelo contato direto e intenso dos mesmos com filhotes de ursos os quais foram aleitados artificialmente.

A infecção por leptospirosas patogênicas em mustelídeos foi evidenciada por FERGUSSON & HEIDT (1981) em cangambás (*Mephitis mephitis*) quando 46,6% dos animais estudados demonstraram positividade para leptospirose. CARPIO et al. (1987) isolaram o sorotipo Pomona desta mesma espécie animal. HATHAWAY et al. (1983), isolaram os sorovares Bratislava e Australis de texugos (*Meles meles*) e o sorovar Australis de minks (*Lutreola lutreola*) na Grã-Bretanha. Outros estudos demonstraram a ocorrência dos sorovares Icterohaemorrhagiae em ferrets (*Mustela putorius furo*) (TORTEN, 1979), Pomona e Sejroe em arminhos (*Mustela erminea*) (TWIGG et al. 1968).

Animais da Família Felidae, assim como os gatos domésticos parecem ser mais resistentes à leptospirose (CARLOS et al. 1971; GREENE, 1984; CORRÊA & CORRÊA, 1992; QUINN et al. 1994). MASON et al. (1972) descreveram dois casos suspeitos em gatos domésticos que vieram a óbito e demonstraram reação positiva para *Leptospira interrogans* sorovar Pomona em um dos animais.

LARSSON (1981) e DICKESON et al. (1993) estudando a leptospirose em grandes grupos de gatos domésticos, relataram uma maior frequência do sorovar Pomona, porém também foram detectados os sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Autumnalis, Ballum, Tarassovi, Copenhageni e Zanoni.

AGUNLOVE & NASH, (1996) investigando a prevalência de infecção leptopírica e possibilidade de ocorrência da doença em 87 gatos da área de Glasgow, Escócia, detectaram 9,2% de positividade nos animais estudados, sendo que o sorovar Hardjo foi encontrado em 5 gatos, o Autumnalis em dois gatos e apenas um dos gatos foi reagente para Icterohaemorrhagiae. Amostras sanguíneas pareadas indicaram infecção recente em um dos animais que apresentava ascite. Quatro dos gatos positivos eram de área rural.

Tentativas de cultura e isolamento das leptospiras em populações de gatos domésticos sorologicamente positivos que foram infectados tanto experimentalmente quanto naturalmente não tiveram sucesso. (LARSSON et al. 1984; LARSSON et al. 1985).

Em felídeos silvestres as informações sobre leptospirose são ainda mais escassas. Um estudo realizado por HEIDT et al. (1988) com lincos americanos (*Felis rufus*) nos Estados Unidos, revelou que 25% dos animais estudados foram reagentes para leptospirose. SHOTTS et al. (1975), demonstraram pela primeira vez a presença do sorovar Grippotyphosa em lincos americanos. JESSUP et al. (1993), estudando um caso de leucemia felina associada a uma espiroquetose renal em suçuarana (*Puma concolor*), pensaram estar diante de um quadro sugestivo de leptospirose subaguda. No entanto, o isolamento e a sorologia não foram suficientes para confirmar um diagnóstico.

LUNA-ALVAREZ et al. (1996), investigando a ocorrência de *Leptospira* spp. em mamíferos do Zoológico de Chapultepec, na Cidade do México, demonstraram 52% de soropositividade nas 48 amostras testadas pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM). Dos 25 animais reagentes, 15 eram da Ordem Carnívora sendo detectados anticorpos contra os sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis, Pomona e Grippotyphosa.

Embora alguns trabalhos de pesquisa sobre a leptospirose em animais silvestres tenham sido realizados na América do Sul, no Brasil a enfermidade ainda é pouco estudada na fauna silvestre de vida livre e os trabalhos científicos sobre a leptospirose estão se iniciando em animais silvestres de cativeiro. Portanto, essa escassez de dados científicos deixa uma possível lacuna no conhecimento da cadeia epidemiológica da doença, o que dificulta a elaboração de planos estratégicos de controle da enfermidade.

No estudo de GUERRA-NETO et al. (2004), realizado em felídeos neotropicais do Criadouro de Animais Silvestres da Itaipu Binacional e do Zoológico Municipal Bosque Guarani em Foz do Iguaçu no Estado do Paraná, no total de 61 felídeos analisados, 28 animais foram reagentes (45,9%) para a prova de SAM e os sorovares encontrados foram: Castellonis, Hardio, Grippyphosa, Bratislava, Patoc, Butembo, Andamana, Autumnalis.

CORRÊA (2000) realizou um levantamento sorológico para a detecção da infecção leptospírica em animais silvestres mantidos em cativeiro na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, no período de 1996 a 1999, no qual foram analisadas 302 amostras de soro sangüíneo e 59 (19,5%) foram reagentes para a SAM. Entre os animais da Ordem Carnivora, a Família Felidae apresentou soropositividade para os sorovares Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippyphosa. Já os animais da Família Canidae foram reagentes contra os sorovares Castellonis, Cynopteri e Mini. Outras ordens e classes de animais foram estudadas e as freqüências de positividade quando verificadas do ponto de vista da localização espacial dos recintos desses animais, permitiram a demonstração de áreas críticas para a exposição as leptospiras dentro do estabelecimento.

A leptospirose é considerada tradicionalmente uma doença ocupacional com maior ocorrência em criadores de animais (BRASIL, 1995; NATARAJASEENIVASAN et al. 2005). Alguns grupos profissionais correm grandes riscos de contrair a infecção devido ao freqüente contato com animais portadores, seus produtos e ainda ao próprio ambiente de trabalho. Pessoas que trabalham com animais silvestres também correm o risco de contrair a infecção, pois muitos destes animais se tornam importantes hospedeiros de manutenção

das leptospiros por toda sua vida. Em conseqüência, tornam-se fontes de infecção para o ser humano e animais domésticos, sendo às vezes a causa de emergência ou re-emergência dessa enfermidade (FAINE, 1994).

Em estudo recente realizado no Zoológico de Uberaba, ESTEVES et al. 2005 encontraram reação positiva para anticorpos contra *Leptospira* spp. em 17 (10,24%) dos 166 animais, dentre todos os mamíferos, aves, répteis e peixes que compunham o plantel do zoológico e os sorovares encontrados foram Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Andamana e Patoc. Também foram analisados os soros sanguíneos dos 36 funcionários que trabalhavam no estabelecimento, no entanto nenhum foi reagente para a SAM.

2. JUSTIFICATIVAS

Este trabalho é justificado pela importância da leptospirose como enfermidade de caráter zoonótico ocorrendo em ambientes (zoológicos, parques ecológicos e criatórios particulares) freqüentados por um alto fluxo de pessoas, uma vez que roedores e outros animais sinantrópicos residem com alta freqüência nestes locais.

A importância em se utilizar amostras sorológicas das oito espécies de felinos brasileiros é justificada pela escassez de dados sobre a participação destes animais na cadeia epidemiológica da leptospirose e a sua real importância para o status de conservação destas espécies, já que a maioria delas se encontra atualmente ameaçadas de extinção e por este motivo fazem parte de programas de reprodução em cativeiro no Brasil e exterior.

Além disso, o fato de se utilizar amostras de soro já colhidas facilitou o desenvolvimento do trabalho, dinamizando o tempo de execução e diminuindo os gastos financeiros.

3. OBJETIVOS

Dado o pouco conhecimento da infecção dos felídeos neotropicais pela *Leptospira* spp. em parques zoológicos brasileiros, a alta presença de roedores nestes locais, a alta susceptibilidade de outras espécies silvestres à infecção por leptospirose e o carácter zoonótico da leptospirose, o presente estudo teve como objetivos:

1. Determinar a frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais pertencentes a 41 instituições (parques zoológicos e criadouros) do Brasil.
2. Identificar os sorovares de maior predominância nas diferentes espécies de felídeos silvestres estudados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em parceria com a Associação Mata Ciliar, coordenadora e mantenedora do Centro Brasileiro para a Conservação de Felídeos Neotropicais, instituído pela Portaria n° 106 de 26 de dezembro de 1995 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

4.1. Área de estudo e espécies estudadas

Entre setembro de 1995 e fevereiro de 2001 foram colhidas amostras sanguíneas de 359 felídeos de cativeiro provenientes de 41 instituições localizadas em 41 cidades nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Anexo 1 e Mapa1), compreendendo oito espécies distintas (Quadro 1 e Anexo 3).

Quadro 1. Espécies e número de felídeos neotropicais estudados para a pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cativeiro no Brasil. Jaboticabal. 2006.

ESPÉCIE	NOME COMUM	NÚMERO DE ESPÉCIMES
<i>Panthera onca</i> (Linnaeus, 1758)	Onça pintada	97
<i>Puma concolor</i> (Linnaeus, 1771)	Suçuarana	70
<i>Leopardus pardalis</i> (Linnaeus, 1771)	Jaguaritica	73
<i>Leopardus wiedii</i> (Schinz, 1821)	Gato maracajá	17
<i>Leopardus tigrinus</i> (Schreber, 1775)	Gato do mato pequeno	41
<i>Herpailurus yagouaroundi</i> (Lacépède, 1809)	Gato mourisco	53
<i>Oncifelis colocolo</i> (Molina, 1810)	Gato palheiro	06
<i>Oncifelis geoffroyi</i> (d'Orbigny and Gervais, 1844)	Gato do mato grande	02
TOTAL		359

4.2. Contenção

Considerando a idade e o tamanho do animal, foi realizada a contenção física (Anexo 3) e química (Anexo 5), procurando-se minimizar o estresse no momento da contenção. Os materiais utilizados na contenção física foram luvas de couro, puçás, jaula de prensa, e caixa de transporte. Para a contenção farmacológica, utilizou-se o cloridrato de quetamina associado ao cloridrato de xilazina ou a associação cloridrato de tiletamina/zolazepam (Anexo 5). Nos poucos animais que apresentaram crises convulsivas, obteve-se a reversão do quadro com a administração imediata de diazepam (0,1 a 0,5 mg/kg), pela via endovenosa.

4.3. Obtenção das amostras de sangue

Para a obtenção do sangue, os animais foram contidos em primeiro plano fisicamente com auxílio de puçás e em seguida colocados em caixas de contenção para facilitar o manejo e a contenção farmacológica posterior. A colheita foi realizada por meio de punção venosa (Anexo 6), utilizando-se seringas e agulhas estéreis. A veia de escolha para colheita, bem como a quantidade de sangue a ser colhido e tamanho da agulha variaram de acordo com a espécie, idade e massa corporal do animal. O sangue colhido foi colocado em tubos de ensaio esterilizados e em seguida mantidos em temperatura ambiente por uma hora para a dessora.

Após este período, o sangue foi centrifugado a 700 G por 5 minutos para a completa separação do soro sangüíneo do coágulo. Os soros obtidos foram transferidos para tubos (tipo *ependorf*) de 1mL, identificados com o número do animal, espécie, instituição e data da colheita e mantidos em freezer à temperatura de -70°C e posterior pesquisa sorológica de anticorpos contra leptospiras.

4.4. Preparo dos antígenos de *Leptospira*

Os antígenos dos sorotipos das leptospiras foram repicados semanalmente, em meio líquido de EMJH (Difco), tendo como inóculo 10% do volume do meio a semear. Foram utilizados apenas antígenos puros, isentos de contaminação, livres de autoaglutinação e, por estimativa de densidade contendo cerca de 100 a 200 leptospiras por campo microscópico.

4.5. Pesquisa de anticorpos no soro sangüíneo

A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi realizada pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM). Para tanto, foi utilizada uma coleção de antígenos constituída por vinte e três sorovares de leptospiras patogênicas e dois sorovares de leptospiras apatogênicas (Quadro 2).

4.6. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

Os soros foram diluídos em solução tamponada de Sörensen, segundo SANTA ROSA (1970), sendo a diluição inicial de 1/50. Dessa diluição foram colocadas alíquotas de 50 µL em placas de poliestireno, com fundo em formato de U, e adicionada igual quantidade de antígeno, de 25 variantes antigênicas de leptospira, resultando na diluição de 1/100. A mistura soro e antígeno foi levemente agitada e incubada em estufa bacteriológica à temperatura de 28°C por duas horas, procedendo-se a seguir à leitura em microscopia de campo escuro, com objetiva de 100x. O critério adotado para ter se considerado um soro como reagente foi o de no mínimo 50% de aglutinação, ou seja, metade das leptospiras aglutinadas no campo microscópico no aumento de 100 vezes. Os soros reagentes na triagem inicial foram reexaminados com sete diluições seriadas de razão dois e foram utilizados apenas os animais cujos soros apresentaram titulação mínima de 100. O título do soro foi considerado a recíproca da sua maior diluição que apresentou no mínimo 50% de aglutinação. Quando um animal apresentou reação cruzada de dois ou mais sorovares do mesmo sorogrupo, foi considerado o sorovar que apresentou maior título. Títulos considerados baixos, de 100 e 200, podem ser encontrados em amostras de soro sangüíneo de animais convalescentes como título residual de infecção prévia ou em casos de infecção recém instalada e podem ser significantes em animais não vacinados (FURTADO et al. 1997).

4.7. Análise Estatística

As diferenças entre as frequências da infecção por *Leptospira* spp. dentre as populações e espécies de felídeos neotropicais estudadas foram analisadas pelo teste Qui-quadrado (X^2) (BEIGUELMAN, 1996).

Quadro 2. Estirpes* de *Leptospira interrogans* empregadas como antígenos na reação de soroaglutinação microscópica aplicada à leptospirose, segundo o número de controle (código), o sorogrupo e a variante sorológica. Jaboticabal. 2006.

Código	Sorogrupo	Variante Sorológica
1-A	Australis	Australis
1-B	Australis	Bratislava
2-A	Autumnalis	Autumnalis
2-B	Autumnalis	Butembo
2-C	Ballum	Castellonis
3	Bataviae	Bataviae
5	Canicola	Canicola
6	Celledoni	Whitcombi
7	Cynopteri	Cynopteri
8	Grippotyphosa	Grippotyphosa
9	Hebdomadis	Hebdomadis
10-A	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
10-B	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
11	Javanica	Javanica
12	Panama	Panama
13	Pomona	Pomona
14	Pyrogenes	Pyrogenes
15-A	Sejroe	Hardjo
15-B	Sejroe	Wolffi
16	Shermani	Shermani
17	Tarassovi	Tarassovi
18	Andamana	Andamana
20	Seramanga	Patoc
21	Mini	Mini
ST	Djasiman	Sentot

*Gentilmente cedidas pela Pesquisadora Dra. Margareth Elide Genovez, Instituto Biológico/ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal/ Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução.

5. RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os resultados gerais obtidos pela SAM nos soros sangüíneos de felídeos neotropicais em cativeiro examinados, oriundos de 41 instituições do sudeste do Brasil. Dos 359 soros sangüíneos, 46 (12,81%) foram reagentes contra 23 sorovares de leptospiros patogênicas e dois sorovares de leptospiros apatogênicas. Dentre as oito espécies estudadas, a maior freqüência de amostras sorológicas reagentes foi para a espécie *Leopardus pardalis* (20,54%). Os felídeos das espécies *Leopardus wiedii*, *Oncifelis colocolo* e *Oncifelis geoffroy* não foram reagentes na SAM.

Tabela 1. Número (N°) e freqüência (%) de amostras de soro sangüíneo reagentes e não reagentes para leptospirose pela prova de SAM, de acordo com as espécies de felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil estudadas. Jaboticabal-SP. 2006.

ESPÉCIE	Reagentes		Não reagentes		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
<i>Panthera onca</i>	17	17,52	80	82,48	97
<i>Puma concolor</i>	09	12,85	61	87,15	70
<i>Leopardus pardalis</i>	15	20,54	58	79,46	73
<i>Leopardus wiedii</i>	00	00,00	17	100	17
<i>Leopardus tigrinus</i>	02	04,87	39	95,13	41
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	03	05,66	50	94,34	53
<i>Oncifelis colocolo</i>	00	00,00	06	100	06
<i>Oncifelis geoffroy</i>	00	00,00	02	100	02
TOTAL	46	12,81	313	87,19	359

Na Tabela 2 verifica-se a freqüência de soros sangüíneos de felídeos neotropicais reagentes para a prova de SAM para diagnóstico da leptospirose de acordo com os Estados do Brasil abrangidos pelo estudo, os quais mantêm essa população em cativeiro.

Tabela 2. Frequência (%) e número (N°) de amostras de soro sangüíneo de felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil reagentes e não reagentes para leptospirose pela prova de SAM, de acordo com os Estados de origem. Jaboticabal-SP. 2006.

ESTADO	Reagentes		Não reagentes		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
São Paulo	34	13,54	217	86,46	251
Minas Gerais	12	14,45	71	85,55	83
Rio de Janeiro	00	00	25	100	25
TOTAL	46	12,81	313	87,19	359

Nos 251 soros sangüíneos de felídeos neotropicais pertencentes às 27 instituições do Estado de São Paulo observou-se a frequência de 13,54% de soros reagentes. Nos felídeos provenientes das 12 instituições do Estado de Minas Gerais, a frequência foi de 14,45%. Já para o Estado do Rio de Janeiro não houve animais reagentes na prova de SAM para diagnóstico de leptospirose.

Na análise geral dos resultados, a diferença entre as frequências de amostras sorológicas reagentes entre os felídeos do Estado de São Paulo e Minas Gerais não foram significativas ($p > 0,05$). A ausência de animais reagentes no Estado do Rio de Janeiro impossibilitou comparações estatísticas.

A tabela 3 demonstra os resultados sorológicos da SAM para leptospirose nos felídeos neotropicais em cativeiro nas 27 instituições no Estado de São Paulo, segundo a espécie animal e os sorovares encontrados.

Nos animais da espécie *Panthera onca*, os resultados mostraram uma variedade maior de sorovares ocorrendo nos soros dos animais do Estado de São Paulo, onde das 72 amostras examinadas, 15 (20,83%) foram reagentes e os sorovares encontrados nesta espécie foram Copenhageni, Grippotyphosa, Pomona Icterohaemorrhagiae, Patoc e Andamana.

Nas amostras sorológicas da espécie *Puma concolor*, das 43 examinadas, apenas quatro (9,3%) foram reagentes e os sorovares encontrados foram Copenhageni, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae.

Na espécie *Leopardus pardalis*, dos 45 soros examinados, 12 (26,66%) foram reagentes e os sorovares encontrados foram Grippotyphosa, Pomona e Icterohaemorrhagiae. Para as espécies *Leopardus tigrinus* e *Herpailurus yagouaroundi*, as freqüências foram baixas, sendo 02/30 (6,66%) e 01/36 (2,77%) respectivamente. Os felídeos das espécies *Leopardus wiedii*, *Oncifelis colocolo* e *Oncifelis geoffroy* não foram reagentes para a SAM.

Tabela 3. Resultados da prova de SAM para diagnóstico da leptospirose em felídeos neotropicais em cativeiro nas 27 instituições no Estado de São Paulo, quanto ao número de animais reagentes e os sorovares encontrados. Jaboticabal-SP. 2006.

ESPÉCIE	Nº DE ANIMAIS EXAMINADOS	Nº DE ANIMAIS REAGENTES	%	SOROVARES ENCONTRADOS
<i>Panthera onca</i>	72	15	20,83	Copenhageni, Grippotyphosa, Pomona Icterohaemorrhagiae, Patoc e Andamana
<i>Puma concolor</i>	43	4	9,3	Copenhageni, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae
<i>Leopardus pardalis</i>	45	12	26,66	Grippotyphosa, Pomona e Icterohaemorrhagiae
<i>Leopardus wiedii</i>	17	0	0	_____
<i>Leopardus tigrinus</i>	30	2	6,66	Icterohamorrhagiae
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	36	1	2,77	Grippotyphosa
<i>Oncifelis colocolo</i>	6	0	0	_____
<i>Oncifelis geoffroy</i>	2	0	0	_____
TOTAL	251	34	13,54	

A Tabela 4 mostra os resultados sorológicos da SAM para leptospirose nos felídeos neotropicais em cativeiro no Estado de Minas Gerais, segundo a espécie animal e os sorovares encontrados.

Nos soros dos animais da espécie *Panthera onca* pertencentes ao Estado de Minas Gerais, os resultados mostraram a ocorrência apenas do sorovar Grippotyphosa (12,50%), enquanto que para a espécie *Puma concolor* houve predominância do sorovar Grippotyphosa seguido do sorovar Icterohaemorrhagiae.

Na espécie *Leopardus pardalis*, dos 26 soros sanguíneos analisados em Minas Gerais, apenas três (11,53%) foram reagentes na SAM e os sorovares encontrados foram: Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc com título 100 nos três soros reagentes. Nesta espécie, a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. apresentou-se de maneira diferente quando foram comparadas estatisticamente as frequências de soros reagentes entre os Estados de São Paulo e de Minas Gerais ($p < 0,05$).

Para a espécie *Herpailurus yagouaroundi*, dos 13 soros examinados, apenas dois (15,38%) foram reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae.

Os soros de felídeos da espécie *Leopardus tigrinus* não foram reagentes.

Tabela 4. Resultados da prova de SAM para diagnóstico da leptospirose em felídeos neotropicais em cativeiro nas 12 instituições no Estado de Minas Gerais, quanto ao número de animais reagentes e os sorovares encontrados. Jaboticabal-SP. 2006.

ESPÉCIE	Nº DE ANIMAIS EXAMINADOS	Nº DE ANIMAIS REAGENTES	%	SOROVARES ENCONTRADOS
<i>Panthera onca</i>	16	2	12,50	Grippotyphosa
<i>Puma concolor</i>	19	5	26,31	Canicola, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae
<i>Leopardus pardalis</i>	26	3	11,53	Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc
<i>Leopardus tigrinus</i>	09	0	0	_____
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	13	2	15,38	Icterohaemorrhagiae
TOTAL	83	12	14,45	

Das 46 amostras reagentes de felídeos neotropicais em cativeiro nas 41 instituições estudadas, 18 (39,13%) foram reagentes contra o sorovar Grippotyphosa, 10 (21,73%) foram contra o sorovar Icterohaemorrhagiae, 9 (19,56%) foram contra o sorovar Pomona, três (6,52%) foram contra os sorovares Copenhageni e três contra o sorovar Andamana, dois (4,34%) foram contra o sorovar Patoc e apenas um (2,17%) foi reagente contra o sorovar Canicola (Tabela 5).

Nessas amostras, os títulos sorológicos variaram entre 100 e 3.200, sendo que 21 animais apresentaram títulos de aglutininas de 100, 16 animais apresentaram títulos de 200, quatro apresentaram títulos de 400, dois apresentaram títulos de 800, um apresentou título de 1.600 e dois apresentaram títulos de 3.200 (Tabela 5).

Embora o sorovar Grippotyphosa tenha sido o mais freqüente nas 41 instituições estudadas, não houve diferença significativa ($p>0,05$) quando se comparou dentre os soros reagentes, a freqüência deste sorovar no Estado de São Paulo e em Minas Gerais.

Já sorovar Icterohaemorrhagiae foi o segundo sorovar mais freqüente nas 12 instituições do estado de Minas Gerais e o terceiro mais freqüente nas 27 instituições do Estado de São Paulo. No entanto, não houve diferença significativa ($p>0,05$) quando se comparou dentre todas as amostras reagentes, a freqüência deste sorovar em ambos os Estados.

Tabela 5. Freqüência de soros sangüíneos de felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil examinados pela prova de SAM para o diagnóstico de leptospirose segundo o sorovar reagente e o título* obtido. Jaboticabal-SP. 2006.

SOROVAR	TÍTULO						TOTAL	1	2
	100	200	400	800	1.600	3.200		(%)	(%)
Canicola	1	0	0	0	0	0	1	2,17	0,27
Grippotyphosa	7	10	0	0	0	1	18	39,13	5,01
Copenhageni	1	2	0	0	0	0	3	6,52	0,85
Icterohaemorrhagiae	6	3	1	0	0	0	10	21,73	2,78
Pomona	1	1	3	2	1	1	9	19,56	2,50
Patoc	2	0	0	0	0	0	2	4,34	0,55
Andamana	3	0	0	0	0	0	3	6,52	0,85
TOTAL	21	16	4	2	1	2	46	100	12,81

*= Recíproca da maior diluição do soro com 50% de aglutinação.

1= Freqüência entre o total de animais reagentes.

2= Freqüência entre o total de animais examinados.

Das 34 amostras reagentes de felídeos neotropicais em cativeiro nas 27 instituições estudadas no Estado de São Paulo, 13 (38,25%) foram contra o sorovar Grippotyphosa, 9 (26,47%) contra o sorovar Pomona, 6 (17,64%) contra o

sorovar Icterohaemorrhagiae, três (8,82%) contra o sorovar Copenhageni, dois (5,88%) contra o sorovar Andamana e apenas um (2,94%) foi reagente contra o sorovar Patoc. Os títulos sorológicos variaram entre 100 e 3.200, sendo que 14 soros apresentaram títulos de aglutininas de 100, 11 apresentaram títulos de 200, quatro apresentaram títulos de 400, dois apresentaram títulos de 800, um apresentou título de 1.600 e dois apresentaram títulos de 3.200 (Tabela 6).

Nas 359 amostras analisadas, o sorovar Grippotyphosa foi o mais freqüente (5,01%).

Tabela 6. Freqüência de soros sangüíneos de felídeos neotropicais em cativeiro no Estado de São Paulo examinados pela prova de SAM para o diagnóstico de leptospirose segundo o sorovar reagente e o título* obtido. Jaboticabal-SP. 2006.

SOROVAR	TÍTULO						TOTAL	1	2
	100	200	400	800	1.600	3.200		(%)	(%)
Grippotyphosa	5	7	0	0	0	1	13	38,25	5,2
Copenhageni	1	2	0	0	0	0	3	8,82	1,19
Icterohaemorrhagiae	4	1	1	0	0	0	6	17,64	2,39
Pomona	1	1	3	2	1	1	9	26,47	3,58
Andamana	2	0	0	0	0	0	2	5,88	0,79
Patoc	1	0	0	0	0	0	1	2,94	0,39
TOTAL	14	11	4	2	1	2	34	100	13,54

*= Recíproca da maior diluição do soro com 50% de aglutinação.

1= Freqüência entre o total de soros reagentes.

2= Freqüência entre o total de soros examinados.

Das 12 amostras reagentes de felídeos neotropicais em cativeiro nas 12 instituições estudadas no Estado de Minas Gerais, cinco (41,66%) foram reagentes contra o sorovar Grippotyphosa, quatro (33,33%) contra o sorovar Icterohaemorrhagiae, um (8,33%) contra o sorovar Canicola, um (8,33%) contra o sorovar Andamana e um (8,33%) contra o sorovar Patoc. Os títulos sorológicos

variaram entre 100 e 200 nestas amostras, sendo que sete animais apresentaram títulos de aglutininas de 100 e 5 animais apresentaram títulos de 200 (Tabela 7).

Tabela 7. Frequência de soros sanguíneos de felídeos neotropicais em cativeiro no Estado de Minas Gerais examinados pela prova de SAM para o diagnóstico de leptospirose segundo o sorovar reagente e o título* obtido. Jaboticabal-SP. 2006.

SOROVAR	TÍTULO						TOTAL	1	2
	100	200	400	800	1.600	3.200		(%)	(%)
Canicola	1	0	0	0	0	0	1	8,33	1,20
Grippotyphosa	2	3	0	0	0	0	5	41,66	6,04
Icterohaemorrhagiae	2	2	0	0	0	0	4	33,33	4,81
Andamana	1	0	0	0	0	0	1	8,33	1,20
Patoc	1	0	0	0	0	0	1	8,33	1,20
TOTAL	7	5	0	0	0	0	12	100	14,45

*= Recíproca da maior diluição do soro com 50% de aglutinação.

1= Frequência entre o total de soros reagentes.

2= Frequência entre o total de soros examinados.

Dos 25 felídeos neotropicais em cativeiro no Estado do Rio de Janeiro, nenhum foi reagente para a prova de SAM para diagnóstico de leptospirose.

Dos 46 animais que foram reagentes neste estudo, 41 (89,13%), foram reagentes contra os sorovares de *Leptospira* patogênicos, sendo 18 contra o sorovar Grippotyphosa, 10 contra Icterohaemorrhagiae, 9 contra Pomona, três contra Copenhageni e apenas um contra Canicola (Tabela 8). As outras cinco (10,8%) amostras foram reagentes contra os sorovares não-patogênicos, sendo três contra Andamana e dois contra Patoc (Tabela 9).

Tabela 8. Resultados da prova de SAM para a detecção de anticorpos contra as variantes antigênicas patogênicas de *Leptospira* spp. nas amostras de soro sanguíneo de felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil. Jaboticabal-SP. 2006.

SOROVARES	Nº DE ANIMAIS EXAMINADOS	Nº DE ANIMAIS REAGENTES	%
Canicola	359	1	0,28
Grippotyphosa	359	18	5,03
Copenhageni	359	3	0,83
Icterohaemorrhagiae	359	10	2,78
Pomona	359	9	2,50
TOTAL	359	41	11,42

Tabela 9. Resultados da prova de SAM para a detecção de anticorpos contra as variantes antigênicas não-patogênicas de *Leptospira* spp. nas amostras de soro sanguíneo de felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil. Jaboticabal-SP. 2006.

SOROVARES	Nº DE ANIMAIS EXAMINADOS	Nº DE ANIMAIS REAGENTES	%
Andamana	359	3	0,83
Patoc	359	2	0,55
TOTAL	359	5	1,38

6. DISCUSSÃO

Os estudos a respeito da leptospirose em animais silvestres de vida livre suplantam os dados referentes aos animais mantidos em cativeiro (LUNA-ALVARES et al. 1996), uma vez que o conhecimento da dinâmica da leptospirose no ambiente *in situ* é de importância singular para o estudo de surtos e posterior estabelecimento de medidas de vigilância. No entanto, poucos estudos evidenciam a presença da leptospirose acometendo populações cativas, relatando óbito em primatas (SHIVE et al. 1969; SÁ et al. 1999), guanaco (HODGIN et al. 1984) e ariranhas (FARIAS et al. 1999).

Embora a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. tenha sido descrita em felídeos neotropicais em cativeiro, o presente estudo constitui o maior levantamento sorológico realizado até o momento. Neste estudo foram analisados os soros sangüíneos de 359 felídeos neotropicais de cativeiro, alocados em 41 instituições no Brasil, dentre zoológicos e criadouros particulares, pela prova de SAM para a pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp.

A análise geral dos resultados mostrou que destes 359 animais, 46 (12,81%) foram reagentes para a SAM (Tabela 1) com títulos iguais ou superiores a 100. Nas amostras reagentes, os sorovares encontrados foram: Grippotyphosa (18/46: 39,13%), Icterohaemorrhagiae (10/46: 21,73%), Pomona (9/46: 19,56%), Copenhageni (3/46: 6,52%), Canicola (1/46: 2,17%), Andamana (3/46: 6,52%) e Patoc (2/46: 4,34%), demonstrando uma alta ocorrência de sorovares patogênicos nos felídeos neotropicais estudados (Tabelas 5 e 6).

Estudos sorológicos para leptospirose em animais silvestres de cativeiro no Brasil ainda estão se iniciando. Em estudo recente, GUERRA-NETO et al. (2004), verificaram a ocorrência de anticorpos para *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais de cativeiro no Estado do Paraná, observando que dos 61 animais analisados, 28 (45,9%) foram reagentes para a SAM e os sorovares encontrados foram: Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Grippotyphosa, Hardjo, Andamana e Patoc. Os resultados obtidos no estudo presente diferem do estudo realizado pelos autores supra citados, uma vez que a maioria dos animais

reagentes foi para sorovares patogênicos, enquanto que nos animais do Estado do Paraná a maior ocorrência foi para os sorovares não patogênicos.

Em estudo semelhante realizado por CORRÊA (2000) na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, das 302 amostras de soro sanguíneo de animais silvestres de cativeiro pertencentes àquela instituição, 101 amostras foram de felídeos silvestres (neotropicais e exóticos); e destas, 17 (16,8%) foram reagentes na SAM para leptospirose. Nestes animais, os sorovares encontrados com maior frequência foram: Pomona (12/17: 70,5%), Icterohaemorrhagiae (2/17: 11,7%) e Grippytyphosa (1/17: 5,8%), condizendo com os resultados encontrados no presente estudo.

Os resultados do presente estudo foram separados por Estados com a finalidade de se verificar diferenças nas frequências de amostras reagentes, no entanto, nenhuma das comparações entre os Estados foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$), pois em São Paulo as frequências de animais reagentes foram semelhantes com as encontradas no Estado de Minas Gerais; 13,54% contra 14,45%, respectivamente (Tabela 2). Dos 25 felídeos neotropicais em cativeiro no Estado do Rio de Janeiro, nenhuma amostra foi reagente para a SAM, impossibilitando comparações estatísticas.

Para as onças-pintadas (*Panthera onca*), das 97 amostras de soro sanguíneo examinadas, 17 (17,52%) foram reagentes (Tabela 1). Para esta espécie, os resultados mostraram uma variedade maior de sorovares ocorrendo no Estado de São Paulo, pois, dos 72 animais examinados, 15 (20,83%) foram reagentes e os sorovares encontrados foram Copenhageni, Grippytyphosa, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc (Tabela 3). Já nas onças pertencentes ao Estado de Minas Gerais, os resultados mostraram apenas a ocorrência do sorovar Grippytyphosa em dois soros dos 16 (12,50%) examinados (Tabela 4). Para esta espécie os títulos sorológicos variaram de 100 a 3.200. Dos quatro soros de onças-pintadas examinados por GUERRA-NETO et al. (2004), apenas dois foram reagentes para os sorovares Hardjo e Castellonis com titulações de 100. No trabalho realizado por CORRÊA (2000) a ocorrência dos sorovares Grippytyphosa e Pomona com títulos acima de 400 demonstrou a importância

desses sorovares no presente estudo. A evidência dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc em onças-pintadas no Brasil é mencionada pela primeira vez neste trabalho.

Nas suçuaranas (*Puma concolor*), dos 70 soros sanguíneos examinados, apenas nove (12,85%) foram reagentes (Tabela 1) e os sorovares encontrados foram: Canicola, Copenhageni, Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae (Tabelas 3 e 4). Dos 43 soros colhidos em instituições do Estado de São Paulo, apenas quatro (9,3%) foram reagentes e com título máximo de 200 contra os sorovares Grippytyphosa e Copenhageni. Nas 19 suçuaranas do Estado de Minas Gerais, cinco (26,31%) apresentaram soros reagentes contra os sorovares Canicola, Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae, com título máximo de 200 somente para o sorovar Grippytyphosa.

Os sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola ocorreram apenas em dois soros dos quatro espécimes pertencentes ao zoológico de Uberaba (MG). Estes quatro animais dividiam o mesmo recinto, viviam sob o mesmo manejo sanitário e eram alimentados juntos. No entanto, como duas das suçuaranas não foram reagentes, pode-se sugerir que os animais reagentes haviam tido um contato prévio com a bactéria antes de terem sido alocadas no respectivo zoológico. No estudo de GUERRA-NETO et al. (2004), duas (66,6%) das três suçuaranas foram reagentes para os sorovares Grippytyphosa e Bratislava, sendo que uma delas apresentou título 1.600, diferente dos baixos títulos e dos sorovares encontrados para esta espécie no presente estudo. Em contrapartida, CORRÊA (2000) encontrou apenas o sorovar Icterohaemorrhagiae no soro de uma das três suçuaranas examinadas.

Para as jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), das 73 amostras de soro sanguíneo examinadas, 15 (20,54%) foram reagentes (Tabela 1) e os sorovares encontrados foram: Grippytyphosa, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc (Tabelas 3 e 4). Para o Estado de São Paulo, das 45 amostras de soro examinadas, 12 (26,66%) foram reagentes para os sorovares Grippytyphosa, Pomona e Icterohaemorrhagiae com títulos que variaram de 100 a 3.200 sendo o maior para o sorovar Pomona.

Os exames dos soros sangüíneos das jaguatiricas do Estado de Minas Gerais mostraram resultados diferentes daqueles encontrados no Estado de São Paulo, pois dos 26 soros examinados, apenas três (11,53%) foram reagentes na SAM e os sorovares encontrados foram: Icterohaemorrhagiae, Andamana e Patoc, com título 100 para os três reagentes. No entanto, FURTADO et al. (1997), relatam que títulos ≤ 100 podem ser encontrados em amostras de soro sangüíneo de animais convalescentes como título residual de infecção prévia ou de infecção recente.

A freqüência de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi estatisticamente significativa quando se comparou os resultados de soros reagentes em jaguatiricas nos dois Estados ($p < 0,05$). Esta freqüência significativamente menor de anticorpos encontrados nas jaguatiricas do Estado de Minas Gerais se deve ao fato de que a maior parte dessa população esteja alojada num mesmo criadouro particular, localizado em Contagem, o qual mantém uma população estável de jaguatiricas se reproduzindo sob um rigoroso manejo sanitário e sistema de quarentena eficiente.

Os sorovares encontrados nas jaguatiricas deste estudo já haviam sido relatados no Brasil, com exceção do sorovar Andamana. CORRÊA (2000), encontrou coaglutinação sorológica em seis das sete jaguatiricas do zoológico de São Paulo que foram reagentes contra os sorovares: Autumnalis, Butembo, Cynopteri, Grippytyphosa, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Hardjo e Patoc. Já GUERRA-NETO et al. (2004) demonstraram a presença de aglutininas em soros dos sorovares Butembo, Grippytyphosa e Patoc em cinco (55,5%) das nove jaguatiricas estudadas.

Nos 17 gatos-maracajás (*Leopardus wiedii*) pertencentes ao Estado de São Paulo, em nenhum se verificou reação sorológica aglutinante contra *Leptospira* spp. Da mesma forma, CORRÊA (2000) também não encontrou qualquer soro reagente nos 12 espécimes pela técnica de SAM. Estes dados diferem dos resultados encontrados para esta espécie por GUERRA-NETO et al. (2004), quando nove amostras de soro (60%) dos 15 gatos-maracajás examinados foram reagentes.

Para os gatos-do-mato-pequenos (*Leopardus tigrinus*), das 41 amostras estudadas, apenas duas (4,87%) foram reagentes (Tabela 1), ambas do Estado de São Paulo. CORRÊA (2000) também não encontrou gatos-do-mato-pequenos reagentes no seu estudo realizado no zoológico de São Paulo, mas GUERRA-NETO et al. (2004) mencionaram que o sorovar Patoc foi reagente em 10 dos 27 gatos-do-mato-pequenos estudados. O sorovar Patoc é não patogênico e tem relação estreita com o ambiente de vida livre, tanto que estes autores ressaltaram a possibilidade das espécies do gênero *Leopardus* serem reservatórios naturais deste sorovar na região do Parque Nacional do Iguaçu, uma vez que a frequência deste sorovar foi de 59% para as amostras de soros de animais pertencentes a este gênero, sendo a maioria deles procedentes daquela região (GUERRA-NETO et al. 2004).

Os felídeos das duas espécies referidas acima são por natureza, quase que exclusivamente arborícolas, pois desenvolveram hábitos alimentares de ornitofagia no decorrer da sua escala evolutiva. Por este motivo, pode-se sugerir que a frequência de anticorpos contra leptospiros nesta espécie seja menor.

Para os 53 gatos-mouriscos (*Herpailurus yagouaroundi*) estudados, apenas três amostras (5,66%) foram reagentes para SAM (Tabela 1), sendo uma do Estado de São Paulo e reagente para o sorovar Grippotyphosa e duas do Estado de Minas Gerais, ambas reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae. Estas duas últimas amostras eram de animais que viviam juntos num mesmo recinto e dividiam o mesmo alimento, sugerindo contato com as leptospiros no mesmo ambiente de cativeiro. Os sorovares Hardjo, Mini e Brasiliensis já haviam sido descritos em *Herpailurus yagouaroundi* por CORRÊA (2000), entretanto GUERRA-NETO et al. (2004) também não descreve aglutinação na SAM em amostras de soros sangüíneos dos gatos-mouriscos do seu trabalho.

Os felídeos das espécies *Oncifelis colocolo* e *Oncifelis geoffroy* são animais muito raramente encontrados em cativeiro, reflexo este gerado pela grande ameaça de extinção. Portanto, estudos científicos sobre estas duas espécies são muito escassos. No presente trabalho, tanto as amostras de soro de seis gatos-palheiros, respectivos representantes da espécie *Oncifelis colocolo* quanto as

amostras dos dois gatos-do-mato-grandes respectivos representantes da espécie *Oncifelis geoffroy*, não foram reagentes na SAM. No entanto, não se pode descartar o papel destas duas espécies como possíveis reservatórios de leptospiros. Como o número de amostras de soro das duas espécies testadas foi pequeno e não representativo, os resultados encontrados podem não ser condizentes com uma real situação da circulação da *Leptospira* spp. nestas espécies.

No estudo ficou constatado que os felídeos neotropicais em cativeiro podem ter contato tanto com leptospiros patogênicos como não patogênicos. Fato este demonstrado nas Tabelas 3, 8 e 9. Dos 46 animais que foram reagentes, 41 (89,13%) foram reagentes para os sorovares de *Leptospira* patogênicos, sendo 18 para o sorovar Grippotyphosa, 10 para Icterohaemorrhagiae, 9 para Pomona, três para Copenhageni e apenas um para Canicola (Tabela 8). Os outros cinco animais foram reagentes para os sorovares não-patogênicos (10,8%), sendo três para Andamana e dois para Patoc (Tabela 9). CORRÊA (2000), GUERRA-NETO et al. (2004) e ESTEVES et al. (2005) relatam a ocorrência dos sorovares não patogênicos nos seus trabalhos, entretanto podem-se verificar nos estudos que a alta frequência destes sorovares está mais relacionada com animais vindos de vida livre.

Os sorovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Autumnalis, Ballum, Tarassovi, Copenhageni e Zanoni foram descritos por LARSSON (1981) e DICKESON et al. (1993), quando estes autores estudaram a frequência de anticorpos para leptospiros em grandes grupos de gatos domésticos, apesar de relatarem uma alta frequência do sorovar Pomona, nenhum animal manifestou sinal clínico mesmo apresentando título sorológico de 800.

AGUNLOVE & NASH (1996) investigando a prevalência de infecção leptopírica e possibilidade de ocorrência da doença em 87 gatos da área de Glasgow, Escócia, detectaram 9,2% de amostras positivas nos animais estudados, sendo que o sorovar Hardjo foi encontrado em cinco gatos, o Autumnalis em dois e o sorovar Icterohaemorrhagiae em apenas um animal. Amostras sanguíneas pareadas indicaram infecção recente em um dos animais o qual apresentava

ascite. Quatro amostras dos gatos reagentes eram de área rural e os títulos não foram superiores a 1.600 com tentativas de isolamento de leptospiras não evidenciado.

Animais da família Felidae, assim como os gatos domésticos parecem ser mais resistentes às infecções leptospíricas, demonstrando títulos baixos e nenhum sinal de infecção (CARLOS et al, 1971; GREENE, 1984; CORRÊA & CORRÊA, 1992; QUINN et al. 1994). Embora estes autores estejam em concordância com esta afirmação, MASON et al. (1972) se depararam com a suspeita de dois casos de leptospirose em gatos domésticos que vieram a óbito e demonstrou reação sorológica positiva para *Leptospira interrogans* sorovar Pomona em um dos animais. Ressalta GUERRA-NETO et al. (2004) que uma das jaguatiricas estudadas teria vindo a óbito com um quadro clínico sugestivo de leptospirose em sua forma ictérica, no entanto a sorologia não confirmou o caso. Esta situação mostra a dificuldade em se trabalhar com animais silvestres, uma vez que ainda conhece-se muito pouco sobre as enfermidades que os acometem (McNAMARA et al. 1997).

Nas 359 amostras examinadas, o sorovar Grippotyphosa foi o mais freqüente (5,01%). No entanto vários trabalhos no mundo evidenciam a presença deste sorovar em animais selvagens em vida livre e em cativeiro (SANTA ROSA et al. 1975; AL SAAD et al. 1976; CIRONE et al. 1978; CORDEIRO et al. 1981; HATHAWAY et al. 1981; EVERARD et al. 1983; SHIMIZU, 1984; SOSA et al. 1988; CALDAS et al. 1992; RIM et al. 1993; HARTSKEERL & TERPSTRA, 1996; CORRÊA, 2000; GUERRA-NETO et al. 2004), mas não se sabe ainda a importância destes animais como reservatórios deste sorovar.

Embora o sorovar Grippotyphosa tenha sido o mais freqüente nas 41 instituições estudadas, não houve diferença significativa ($p>0,05$) quando se comparou dentre os animais reagentes, a freqüência deste sorovar nos Estados de São Paulo e de Minas Gerais. Todavia o sorovar Icterohaemorrhagiae foi o segundo mais freqüente nas 12 instituições do Estado de Minas Gerais e o terceiro mais freqüente nas 27 instituições do Estado de São Paulo, no entanto não houve diferença significativa ($p>0,05$) quando se comparou dentre todos os animais reagentes, a freqüência deste sorovar em ambos os Estados.

Considerando o ambiente de zoológico, era de se esperar uma alta frequência de amostras de animais reagentes para o sorovar *Icterohaemorrhagiae* (21,73%), uma vez que estes ambientes oferecem aos roedores sinantrópicos além de abrigo, uma grande oferta de alimentos, os quais restam nos recintos dos animais e são consumidos geralmente à noite pelos roedores. Outro ponto chave a ser considerado é a localização destas instituições. Por estarem a maioria delas situadas dentro do perímetro urbano, a presença da ratazana (*Rattus norvegicus*) é relativamente alta, sendo este roedor apontado por SANTA ROSA et al. (1975) como o principal reservatório do sorovar *Icterohaemorrhagiae*.

GUERRA-NETO et al. 2004 estudando a ocorrência de anticorpos contra leptospiros em animais silvestres do Criadouro de Animais Silvestres da Itaipu Binacional, um local afastado da zona urbana em Foz do Iguaçu, também puderam constatar a estreita relação da ratazana com o sorovar *Icterohaemorrhagiae* quando observaram que a ratazana não era um roedor frequentemente observado no local, e por este motivo justificava-se a alta presença de pequenos roedores silvestres como o rato-de-chão (*Akodon azarae*) e o camundongo-do-mato (*Oligoryzomys flavescens*). O seu estudo confirmou este fato já que apenas amostra de soro de um felino demonstrou a presença de anticorpos do sorovar *Icterohaemorrhagiae*.

Cruzando as informações sobre as áreas de localização espacial com os resultados sorológicos encontrados, CORRÊA (2000) chama a atenção para duas áreas no zoológico de São Paulo, o Setor Extra I e a Alameda dos Felinos, onde foi observada uma maior frequência de amostras reagentes para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*. Para o Setor Extra I, o autor relaciona a alta frequência de soros sangüíneos reagentes à presença constante de ratazanas neste local, pois é um ambiente com baixo fluxo de pessoas e um grande conglomerado de recintos de animais de várias espécies, favorecendo um ambiente propício para os animais sinantrópicos, de onde foi possível o isolamento de *Leptospira interrogans* sorovar *Icterohaemorrhagiae* do tecido renal de duas ratazanas. Já a Alameda dos Felinos, o autor relaciona a alta frequência de amostras reagentes pela grande proximidade com recintos de outros animais, como aves que desperdiçam alimentos com alta frequência gerando grande oferta de alimentos para os

roedores e a alta umidade presente nesta região do zoológico, aliada ao fato de que existe uma transferência grande de animais do Setor Extra para a Alameda.

Situações como as vivenciadas por CORRÊA (2000) são freqüentemente observadas em praticamente todos os zoológicos brasileiros, pois não existe um plano de ação efetivo para o controle de doenças nestes ambientes, os quais, em muitos dos casos são mantidos por prefeituras que não despedem de gastos com este tipo de atividade, ficando os animais e as pessoas que trabalham com eles susceptíveis aos agentes infecciosos presentes no meio ambiente urbano.

As condições físicas destes locais também são propícias para a manutenção da *Leptospira* spp. no ambiente, pois grande parte destes zoológicos são muito arborizados, inclusive não propiciando a entrada de radiação solar em recintos, o que mantém elevados graus de umidade, principalmente nos períodos mais quentes e com maior índice pluviométrico. Verifica-se com grande freqüência nos zoológicos do Brasil a presença de muitos pontos críticos de acúmulo de água nos recintos, principalmente os que possuem água para os animais se banharem.

Outro fator físico que contribui para a manutenção das leptospirosas no ambiente de zoológico são as barreiras físicas nos recintos. Muitos deles são abertos com barreiras praticamente inexistentes, sendo as grades de tela e alambrado de fácil acesso aos animais sinantrópicos.

A leptospirose é considerada tradicionalmente uma doença ocupacional com maior ocorrência em criadores de animais (BRASIL, 1995; NATARAJASEENIVASAN et al. 2005). Alguns grupos profissionais correm grandes riscos de contrair a infecção devido ao freqüente contato com animais portadores, seus produtos e ainda ao próprio ambiente de trabalho. Diante deste contexto, ESTEVES et al. (2005) estudando a freqüência de anticorpos para *Leptospira* spp. no zoológico de Uberaba, encontrou reação sorológica em 17 (10,24%) dos 166 animais estudados, dentre todos os mamíferos, aves, répteis e peixes que compunham o plantel do zoológico. Os sorovares encontrados foram Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Andamana e Patoc. Apesar de que em torno de 10% dos animais foram reagentes, os soros sangüíneos dos 36 funcionários que trabalhavam no estabelecimento não foram reagentes. Os autores

atribuíram a ausência de reagentes entre os funcionários ao fato de que os equipamentos de proteção individual (EPI) utilizados eram adequados. Embora nenhuma amostra de soro sanguíneo dos funcionários tenha sido reagente, um plano de ação para o controle da leptospirose no zoológico foi estabelecido.

A transmissão da leptospirose entre animais e tratadores de zoológicos não foi notavelmente relatada até o momento, pois apenas um trabalho realizado por ANDERSON et al. (1978) relaciona a ocorrência de leptospirose entre tratadores e filhotes de ursos.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, medidas relativamente simples de melhoria no combate aos roedores sinantrópicos poderiam ser implementadas pelos zoológicos, já que estes se encontram presentes em grande quantidade, usufruindo as condições favoráveis a que este ambiente propicia. Melhor manejo dos restos alimentares de todos os recintos, bem como medidas para se diminuir a umidade e melhoria das barreiras físicas, haja vista a freqüência de animais reagentes e a presença de fatores condicionantes para a ocorrência da infecção por *Leptospira* spp. nos zoológicos e criadouros do Brasil.

Ao comparar os resultados encontrados neste estudo com os resultados dos trabalhos realizados por LUNA-ALVAREZ et al. (1996), CORRÊA (2000), GUERRA-NETO et al. (2004) e ESTEVES et al. (2005) parece evidente que os sorovares observados, assim como as freqüências dos mesmos, estejam mais relacionados com os sorovares de leptospiros da localidade onde se encontram os zoológicos, do que das espécies animais ali alojadas.

A variedade de felídeos sororreagentes de diversos lugares no país, bem como de sorovares encontrados, indicam que a leptospirose deve ser considerada como uma enfermidade difundida nos zoológicos brasileiros. É muito provável que outras famílias de mamíferos, assim como outras classes de animais estejam expostas ao contágio das leptospiros, pois os recintos são próximos em muitos casos, a translocação de animais entre as instituições é freqüente e a possibilidade de disseminação das leptospiros por meio da urina pode ocorrer de fato, assim como a presença inevitável da fauna sinantrópica (pombos, gambás, roedores, gatos ferais, etc).

Se nos felídeos a frequência de anticorpos contra a leptospira foi considerável, mesmo sendo eles vistos por muitos autores como animais resistentes a esta bactéria, é de grande importância que haja um monitoramento sorológico para leptospirose de toda a população de animais silvestres em cativeiro no Brasil, assim como nas pessoas que trabalham e convivem com eles, pois só assim poder-se-á conhecer um pouco mais da dinâmica desta zoonose nestes ambientes.

7. CONCLUSÕES

1. A *Leptospira* spp. está presente em ambientes que mantêm plantéis de felídeos neotropicais em cativeiro.
2. O sorovar Grippotyphosa foi o mais freqüente entre os felídeos silvestres em cativeiro nos estados do Brasil estudados.
3. As freqüências de animais sororreagentes, com exceção das jaguatiricas, quando comparadas estatisticamente entre os Estados de São Paulo e Minas Gerais não apresentaram diferença significativa.
4. Os exames das amostras de felídeos pertencentes às instituições no Estado do Rio de Janeiro não foram suficientes para verificar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp.
5. As espécies de felídeos neotropicais que apresentaram amostras de soro reagentes e os sorovares encontrados foram: *Panthera onca* (Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona, Andamana e Patoc); *Puma concolor* (Canicola, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa); *Leopardos pardalis* (Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona, Andamana e Patoc); *Leopardos tigrinus* (Icterohaemorrhagiae) e *Herpailurus yagouaroundi* (Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae).

8. REFERÊNCIAS*

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonoses y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. **Organización Panamericana de la Salud**, 1986, p.112-20.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. v. 1. Bacteriosis y micosis. 3 ed. Washington: OPS, 2001. 398 p.

AGUNLOVE, C.A.; NASH, A.S. Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. **Journal of Small Animal Practice**, v.37, n.3, p.126-9, 1996.

AL SAAD, M.; POST, G. Rodent leptospirosis in Colorado. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.12, p.315-21, 1976.

ALVARES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MORAIS, Z.A. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.63, n.2, p.11-8, 1996.

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MORAIS Z.M. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprino soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 11-18, 1996.

AMATREDJO, A.; CAMPBELL, R. S. F.; PATH, M. R. C. Bovine leptospirosis. **Veterinary Bulletin**, v. 45, n. 12, p. 875 – 891, 1975.

AMUNDSON, T.E.; YUILL, T.M. Prevalence of selected pathogenic microbial agents in the red fox (*Vulpes fulva*) and gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*) of southwestern Wisconsin. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.7, n.1, p.17-22, 1981.

ANDERSON, D.C.; GEISTFELD, J.G.; MAETZ, H.M.; PATTON, C.M.; KAULFMANN, A.F. Leptospirosis in zoo workers associated with bears. **American Journal of Tropical Medicine and Hygien**, v.27, n.1, pt. 1, p.210-1, 1978.

BARATON, G.; POSTIC, D. **Méthodes de Laboratoire**: leptospirose, borreliose de Lyme. Paris: Instituto Pasteur, 1989. 107p.

BEIGUELMAN, B. Curso prático de Bioestatística.4º ed. rev. Ribeirão Preto, **Revista Brasileira de Genética**. Campinas, 254p.1996.

* Normas de acordo com o Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

BISCHOF, R.; ROGERS, D.G. Serologic survey of select infectious diseases in coyotes and raccoons in Nebraska. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.41, n.4, p.787-91, 2005.

BLAHA, T. **Epidemiologia especial veterinária**. São Paulo: Acribia, p.128-136. 1995.

BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. **Veterinary medicine**. 7 ed. London: Baillière Tindall, 1989, p.758-769.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Programa nacional de leptospirose. **Manual de leptospirose** Coordenação de controle de zoonoses e animais. 2 ed. Brasília, 1995. 98p.

BROD, C, S; ALEIXO, J, A, G ; JOUGLARD, S, D, D ; FERNANDES, C, P, H ; TEIXEIRA, J, L, RS; DELLAGOSTIN, O, A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito. **Medicina Tropical**. São Paulo. v. 38 n. 4. Uberaba jul./ago. 2005.

CALDAS, E.M.; FEHRINGER, W.T.; SAMPAIO, M.B. Aglutininas anti-leptospiras em *Rattus norvegicus* e *Didelphis marsupialis*, em Salvador-Bahia. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária-Universidade da Bahia**. Salvador, v.15. n.1, p.43-50, 1992.

CARLOS, E. R.; KUNDIN, W. D.; WATTEN, M. D.; TSAI, C. C.; IRVING, G. S.; CARLOS, E. T.; DIRECTO, A. C. Leptospirosis in the Filipines: Feline studies. **American Journal of Veterinary Research**, v.32, n.9, p.1455-6, 1971.

CARPIO, M.; WOBESER, G.; IVERSEN, J. *Leptospira interrogans* serotype *pomona* in Saskatchewan: isolation from a naturally infected striped skunk. **Canadian Journal of Microbiology**, v.23, n.12, p.1654-6, 1987.

CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. **Manual de Métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis**. Washington, 1985. 46p. (Nota Técnica, 30).

CIRONE, S.M.; RIEMANN, H.P.; RUPANER, R.; BEHIMER, D.E.; FRANTI, C.E. Evaluation of the hemagglutination test for epidemiologic studies of leptospiral antibodies in wild mammals. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.14, n.2, p.193-202, 1978.

CORDEIRO, F.; SULZER, C.R.; RAMOS, A.A. *Leptospira interrogans* in several wildlife species in Southeast Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.19-29, 1981.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2 ed., MEDSI, 1992, p. 234.

CORRÊA, S. H. R. **Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres da Fundação Parque Zoológico de São Paulo**. São Paulo, 2000. 68f. Dissertação de (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

CÔRTEZ, J.A. **Epidemiologia**. Conceitos e princípios fundamentais. São Paulo: Varela. 227p. 1993.

DAY, T.D.; WASS, J.R.; O'CONNOR, C.E.; CAREY, P.W.; MATTHEUS, L.R.; PEARSON, A.J. Leptospirosis in bushtail possums: is *Leptospira interrogans* serovar balcanica environmentally transmitted? **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.33, n.2, p.254-60, 1997.

DAY, T.D.; O'CONNOR, C.E.; WASS, J.R.; PEARSON, A.J.; MATTHEUS, L.R. Transmission of *Leptospira interrogans* serovar balcanica infection among socially housed bushtail possums in New Zeland. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.34, n.3, p. 576-81, 1998.

DICKESON, D.; LOVE, D. N. A serological survey of dogs, cats and horses in southeastern Australia for leptospiral antibodies. **Australian Veterinary Journal**, v.70, n.10, p.389-90, 1993.

DUHAMEL, G.E.; GANLEY, L.; BARR, B.C.; WHIPPLE, J.P.; MATHIESEN, M.R.; NORDHAUSEN, R.W.; WALKER, R.L.; BARGAR, T.W.; VAN KRUININGEN, H.J. Intestinal spirochetosis of north american opossums (*Didelphis virginianus*): a potencial biologic vector for pathogenic spirochete. **Proceedings AAZV and AAWV - Joint Conference**, p.83-8, 1998.

EVERARD, C.O.R.; FRASER-CHANPONG, G.M.; BHAGWANDIN, L.J.; RACE, M.W.; JAMES, A.C. Leptospirosis in wildlife from Trinidad and Grenada. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.19, n.3, p.192-9, 1983.

ESTEVES, F.M.; GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R.J.S.; SILVA-VERGARA, M.L.; CARVALHO, A.C.F.B. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do Zoológico Municipal de Uberaba, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p.283-88, 2005.

FAINE, S. **Guidelines for Control of Leptospirosis**. Geneva: WHO, 1982. 171p.

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. Boca Raton: CRC Press, 1994. 353p.

FARIAS, T. M.; SILVA, L. H. R.; PIMENTEL, T. L. Incidence of leptospirosis in giant otters at the FUNPEB (Brasilia Pole Ecological Foundation - Brazil).

Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals, 23, The society of Marine Mammology, Wailea, Maui, Hawaii, p.55, 1999.

FERGUSON, D.V.; HEIDT, G.A. Survey for rabies, leptospirosis, toxoplasmosis and tularemia in striped skunks (*Mephitis mephitis*) from three public use areas in northwestern Arkansas. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.17, n.4, p.515-9, 1981.

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. 617p.

FURTADO, L.R.I.; ÁVILA, M.O.; FEHLBERG, M.F.B.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.L.I.; MARTINS, L.F.S. Prevalência e avaliação de fatores de risco à leptospirose canina no município de Pelotas-RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 64, p. 57-61, 1997.

GESE, E.M.; SCHULTZ, R.D.; JOHNSON, M.R.; WILLIAMS, E.S.; CRABTREE, R.L.; RUFF, R.L. Serological survey for diseases in free-ranging coyotes (*Canis latrans*) in Yellowstone National Park, Wyoming. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.31, n.1, p.47-56, 1997.

GREENE, C. E. **Clinical and Microbiology Infection Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1984, p.588-98.

GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R.J.S.; ANDRADE, T. M.; KOPROSKI, L. P.; MORAES, W.; SANTOS, LC. Ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais pertencentes ao Criadouro de Animais Silvestres da Itaipu Binacional e ao Zoológico Municipal Bosque Guarani, Foz do Iguaçu, estado do Paraná. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v.20, n, 1, p.75-80, 2004.

HARTSKEERL, R.A.; TERPSTRA, W.J. Leptospirosis in wild animals. **The Veterinary Quarterly**, v.18, supplement.3, p.149-50, 1996.

HATHAWAY, S.C.; MARSHALL, R.B.; BLACKMORE, D.K. The serologic and cultural prevalence of *Leptospira interrogans* serovar balcanica in possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.14, p.345-50, 1978.

HATHAWAY, S.C.; BLACKMORE, D.K.; MARSHALL, R.B. Leptospirosis in free-living species in New Zealand. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.7, n.4, p.489-96, 1981.

HATHAWAY, S.C.; LITTLE, T.W.A. HEADLAM, S.A.; STEVENS, A.E. Infection of free-living carnivores with leptospirae of Australis serogroup. **Veterinary Record**, v.113, n.11, p.233-5, 1983.

HEIDT, G. A.; RUCKER, R. A.; KENNEDY, M. D.; BAEYENS, M. E. Hematology, intestinal parasites and selected antibodies from a population of bobcats (*Felis rufus*) in central Arkansas. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.24, n.1, p.180-3, 1988.

HIGGINS, R. J.; HARBOUNE, J. F.; LITTLE, T. W. A.; STEVENS, A. E. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* of serotype *hardjo*. **Veterinary Record**, v. 27, n. 9, p. 307 – 309, 1980.

HODGIN, C.; SCHILLORN, W. T.; FAYER, R.; RICHTER, N. Leptospirosis and coccidial infection in a guanaco. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n.185, p.1442-4, 1984.

HOLZMAN, S.; CONROY, M.J.; DAVIDSON, W.R. Diseases, parasites and survival of coyotes in south-central Georgia. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.28, n.4, p.572-80, 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (Brasília). **Legislação sobre zoológicos**. Departamento de Vida Silvestre Brasília: Diretoria de Ecossistemas, 1989.

JESSUP, D. A.; PETTAN, K. C.; LOWENSTINE, L. J.; PEDERSEN, N. C. Feline leukemia virus infection and renal spirochetosis in a free-ranging cougar (*Puma concolor*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.24, n.1, p.73-9, 1993.

KHAN, M.A.; GOYAL, S.M.; DIESCH, S.L.; MECH, D.; FRITTS, S.H. Seroepidemiology of leptospirosis in Minnesota wolves. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.27, n.2, p.248-53, 1991.

KINGSCOTE, B.F. Leptospirosis in red foxes in Ontario. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.22, n.4, p.475-8, 1986.

KMETY, E.; DIKKEN, H. Classification of the species of *Leptospira interrogans* and history of its serovars. University Press Groningen, Groningen, The Netherlands, 1993.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada**, CRMV-SP, São Paulo, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LARSSON, C. E. **Estudo epidemiológico da leptospirose felina**. São Paulo, 1981. 97f. Tese (Doutorado), Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

LARSSON, C. E.; SANTA ROSA, C.A.; HAGIWARA, M.K.; PAIM, G.V.; GUERRA, J.L. Prevalence of feline leptospirosis: serologic survey and attempts of isolation

and demonstration of the agent. **International Journal of Zoonosis**, v.9, n.2, p.161-9. 1984.

LARSSON, C. E.; SANTA ROSA, C.A.; LARSSON, M.H.; BIRGEL, E.H.; FERNANDES, W.R.; PAIM, G.V. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. **International Journal of Zoonosis**, v.12, n.2, p.111-9. 1985.

LUNA-ALVARES, M. A.; MOLES-CERVANTES, L., P.; TORRES-BARRANCA, J. I.; GUALL-SILL, F. Investigación serológica de leptospirosis en fauna silvestre mantenida en cautiverio en el zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. **Veterinaria México**, v.27, n.3, p.229-34, 1996.

McNAMARA, T.; LINN, M.; McCALLE, P.; COOK, R.; KARESH, W.; RAPHAEL, B. Leptospirosis: an under-reported disease in zoo animals? **Proceedings of American Association of Zoo Veterinarians**, p. 248-51, 1997.

MARLER, R. J.; COOK, J.E.; KERR, A.I.; KRUCKENBERG, S.M. Serologic survey for leptospirosis in coyotes in north central Kansas. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.139, p.906-8, 1979.

MASCARO, U.C.P.; SANTOS, E. Controle de Roedores (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) em Armazém Rural pelo Warfarin 0,025% (4-hydroxi-3(3-Ox 0-1-phenylbutyl) coumarin). **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.6, n.1, p 81-87, 1990.

MASON, R. W.; KING B. S. J.; McLACHLAN, N. M. Suspected leptospirosis in two cats. **Australian Veterinary**, v.48, n.11, p.622-3, 1972.

McCAUGHEY, W.J.; FAIRLEI, J.S. Leptospirosis in irish wildlife. **Veterinary Record**, v.89, n.16, p.447, 1971.

MICHNA, S. W. Leptospirosis. **Veterinary Record**, v.86, p.484-496, 1970.

MICHNA, S. W.; CAMPBELL, R. S. F. Leptospirosis in wild animals. **Journal of Comparative Pathology**, v.8, p.101-6, 1970.

MIKKAELIAN, I.; HIGGINS, R.; LEQUIENT, M.; MAJOR, M.; LEFEBURE, F.; MARTINEAU, D. Leptospirosis in raccoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. **Canadian Veterinary**, v.38, n.7, p.440-2, 1997.

MITCHELL, M.A.; HUNGERFORD, L.L.; NIXON, C.; ESKE, T.; SULLIVA, J.; KOERKENMEIER, R.; DUBEY, J.P. Serologic survey for selected infectious disease agents in raccoons from Illinois. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.35, n.2, p.347-55, 1999.

MODRIC, Z.; HUBER, D. Serologic survey for Leptospirae in european brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.29, n.4, p.608-11, 1993.

MONTALI, R. J.; MIGAKI, G. **The comparative pathology of zoo animals**. Washington: Smithsonian Institution, 1980. 684 p.

MUNSON, L.; COOK, R. A. Monitoring, investigation and surveillance of diseases in captive wildlife. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 24, n.3, p. 281-90, 1993.

NATARAJASEENIVASAN, K.; VIJAYACHARI, P.; SHARMA, S.; ROY, S.; SUGUNAN, A.P.; BISWAS, D.; SEHGAL., S.C. Phylogenetic relatedness among leptospiral strains belonging to same serovar recovered from patients with different clinical syndromes. **Infection, Genetics and Evolution**, v.5, n.2, p.185-191. 2005.

NOGUCHI, H. The survival of *Leptospira* (Spirochaeta) *icterohaemorrhagiae* in nature: Observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. **Journal of Experimental Medicine**, v. 27, p. 609 – 625, 1918.

PANDEY, R. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. São Paulo: Roca. 1994, p. 170-193.

PESTANA DE CASTRO, A.F.; SANTA ROSA, C.A.; TROISE, C. Preás (*Cavia aperea azarae*, Lichi.)-(Rodentia: Cavidae) como reservatório de *Leptospira* em São Paulo. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.28, p.219-23, 1961.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. **Microbes and Infection**, Paris, v.2, n.1, p.1265-1266. 2000.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Spain: Wolfe, 1994, p.295.

REILLY, J. R.; FERRIS, D. H.; HANSON, L. E. Experimental demonstration of the enteric route of infection with *Leptospira grippotyphosa* in wild carnivores. **American Journal of Veterinary Research**, v.29, n.9, p.1849-54, 1968.

RIM, B.M.; RIM, C.W.; CHANG, W.H.; KAKOMA, I. Leptospirosis serology in korean wild animals. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.29, n.4, p.602-3, 1993.

ROMERO, E.C.; BERNARDO, C.C.; YASUDA, P.H. Human leptospirosis: a twenty-nine year serological study in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical, São Paulo**, v. 45, n.5, p.245-8, 2003.

SÁ, L. R. M.; TEIXEIRA, R. H. F.; LORETO, C.; CATÃO-DIAS, J. L. Leptospirose em primatas neotropicais. **III Congresso e VIII Encontro da Associação Brasileira de Médicos Veterinários de Animais Selvagens**. São Pedro, São Paulo, p.7, 1999.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Revista de Microbiologia**, v.1, n.9, p.97-109, 1970.

SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; GIORGI, W.; SILVA, A.S.; YANAGUITA, R.M.; LOBAO, A.O. Leptospirosis in wildlife in Brazil; isolation of a new serotype in the pyrogenes group. **American Journal of Veterinary Research**, v.36, n. 9, p.1363-5, 1975.

SEBEK, Z.; KAASERER, G.; SIXL, W.; WALLNER, H.; VALOVA, M. Leptospiral antibodies in wild living animals from North Tyrol. **Folia Parasitologica**, v.23, n.1, p.25-31, 1976.

SHIMIZU, M.M. Environmental and biological determinants for the prevalence of leptospirosis among wild small mammal hosts, Island of Hawaii. **International Journal of Zoonosis**, v.11, p.173-88, 1984.

SHIVE, R. J.; GREEN, S. S.; EVANS, B. S.; GARNER, F. M. Leptospirosis in barbary apes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.155, n.7, p.1776-8, 1969.

SIEMERING, H. Zoonosis. In: FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 63-8.

SILVA, I. A new leptospiral serotype isolated Salvador, Bahia state. **Rev. Microbiology**, v.7, n.2, p. 35-7, 1976.

SHOTTS Jr, E. B.; ANDREWS, C. L.; HARVEY, T. W. Leptospirosis in selected wild mammals of the Florida panhandle and southwestern Georgia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.1, n.7, p.587-9, 1975.

SOSA, G.; SANTOS, O.; DUARTE, C.L.; HERNANDEZ, D.; DELGADO, L. Investigación sorológica y bacteriológica de leptospirosis realizada en fauna exótica. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, v. 19, n.3, p.219-26, 1988.

STRAUBE, M.; BAUERFEIND, R.; RIETSCHEL. Epidemiological investigation of leptospirosis in zoological gardens. **5° scientific meeting of European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians (EAZWV)**. p.19-23, 2004.

SULZER, C.R.; JONES, W.L. **Leptospirosis: method in laboratory diagnosis**. Atlanta: Center for Diseases Control, U.S., Dept. Health Education and Welfare, 40p. 1980.

SZYFRES, B. Leptospirosis as an animal and public health problem in Latin America and the Caribbean Area. **Pan. Am. Health Org. Bull.**, Washington, v.10, p. 110-25, 1976.

THE WORLD ZOO ORGANIZATION - IUDZG. THE CAPTIVE BREEDING SPECIALIST GROUP (IUCN/SSC). **The world zoo conservation strategy** - The role of the zoos and aquaria of the world in global conservation. Illinois: Chicago Zoological Society, 1993. 76p.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2 ed. Oxford: Blackwell Science, 1995. p.148.

TORTEN, M. Leptospirosis. In: Steele, J.H., ed. **CRC handbook series in zoonoses. Section A: Bacterial, rickettsial and micotic diseases**. v.1, Boca Raton, Fla: CRC Press, p.363-421, 1979.

TWIGG, G.I.; CUERDEN, C.M.; HUGHES, D.M. Leptospirosis in British wild mammals. **Symposium of Zoological Society of London**, v.24, p.75-8, 1968.

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção das leptospiras na natureza. **Comunidade Científica**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, v.11, n.1, p.17-24, 1987.

ZARNKE, R.L. Serologic survey for selected microbial pathogens in Alaskan wildlife. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.19, n.4, p.324-9, 1983.

ANEXOS

ANEXO 2. Felídeos estudados para a pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp.



Panthera onca (Linnaeus, 1758)



Puma concolor (Linnaeus, 1771)



Leopardus pardalis (Linnaeus, 1771)



Leopardus wiedii (Schinz, 1821)

ANEXO 2. Felídeos estudados para a pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp.
(continuação)



Leopardus tigrinus (Schreber, 1775)



Herpailurus yagouaroundi (Lacépède, 1809)



Oncifelis colocolo (Molina, 1810)



Oncifelis geoffroyi (d'Orbigny and Gervais, 1844)

ANEXO 3. Contenção física de uma jaguatirica (*Leopardus pardalis*) utilizando-se do auxílio de um puçá. Neste caso a administração do fármaco para contenção química era realizada por via intramuscular através do puçá.



ANEXO 4. Contenção química de uma suçuarana (*Puma concolor*) utilizando-se dardos de zarabatana contendo o fármaco anestésico.



ANEXO 5. Dosagens anestésicas utilizadas para a contenção química dos felídeos silvestres neotropicais – Brasil, 2006.

FELÍDEO NEOTROPICAL	DROGAS E DOSES (mg/kg)*
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	Cloridrato de quetamina (10)
<i>Leopardus tigrinus</i>	+
<i>Leopardus wiedii</i>	Cloridrato de xilazina (2)
<i>Oncifelis colocolo</i>	
<i>Oncifelis geoffroyi</i>	
<i>Leopardus pardalis</i>	Cloridrato de quetamina (12)
	+
	Cloridrato de xilazina (1)
<i>Puma concolor</i>	Cloridrato de quetamina (10)
<i>Panthera onca</i>	+
	Cloridrato de xilazina (1)
	ou
	Cloridrato de tiletamina + zolazepam (7)

*Fonte: ASSOCIAÇÃO MATA CILIAR(1996)

ANEXO 6. Colheita de sangue de um gato maracajá (*Leopardus wiedii*) utilizando-se o acesso jugular como veia de escolha.

